

平成21年 5月12日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591334

研究課題名（和文） 扁桃体を中心とした不安の脳内神経回路の研究

研究課題名（英文） Study about the amygdala and anxiety-related neural circuit in brain

研究代表者

泉 剛 (IZUMI TAKESHI)

北海道大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：60312360

研究成果の概要：不安の動物モデルであるラットの恐怖条件付けストレスにおいて、ストレス時に扁桃体基底核で、神経細胞の活性増加が認められ、同部位が不安に中心的な役割を果たしていることが明らかとなった。さらに、扁桃体基底核誘発電位が、fluvoxamine投与によって増強した。基底核での5-HT神経伝達増強によって、同部位のシナプス伝達効率が増加し、不安を抑制する何らかの神経機構が働いていることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：精神薬理学

## 1. 研究開始当初の背景

動物が外界の危険を察知し、逃避・攻撃・すくみ・擬死などの生存に必要な反応をとるためには、不安情動の存在が必須である。ヒトにおいても適切な対人距離を保って健全な社会生活を営むためには、正常範囲の不安・緊張が必要とされる。しかし、全般性不安障害、パニック障害におけるように、不安

が病的な範囲にいたると日常生活に多大な支障をきたすことになる。また近年、ヒトの不安障害の一型として外傷後ストレス障害（PTSD）が注目されている。その疾患概念や診断について未だ多くの議論があるものの、PTSD概念の意義のひとつとして、心理的ストレスが脳の永続的な生物学的変化をきたし得ることを主張していることが挙げ

られる。

動物の大脳皮質を切除すると情動性が著しく亢進することから、皮質下に情動中枢が存在することが19世紀から予想されていた。その後両側側頭葉切除によって動物が異常に温和になる事象が見出された（クリューパー・ビューシー症候群）。また両側側頭葉に障害を受けたヒトでも同様の情動性の変化をきたすことが知られるようになり、側頭葉深部に存在する扁桃体がその責任部位である可能性が指摘されていた。さらにこの見解は、先天性に両側扁桃体を欠損したヒトが、他人の表情を手がかりとした情動認知に障害を示した実験でも支持された。

恐怖条件付けストレス（conditioned fear stress、CFS）は、負強化古典的条件付けを用いた不安の動物モデルであり、shock箱に入れたラットに対して、電撃ストレスを無条件刺激とし、光・音刺激（感覚刺激）や箱に入れる操作（文脈刺激）を条件刺激として古典的条件付けを成立させ、後日条件刺激のみの提示によって、不安反応を惹起するものである。LeDouxらのグループは、一連の破壊実験によって感覚刺激依存性CFSには扁桃体が、文脈性CFSには海馬と扁桃体の存在が必須であることを解明した。

筆者はこれまでCFSを不安の動物モデルとして各種抗不安薬の効果を確認する一方で（Izumi et al., 1996; Izumi et al., 1999）、転写因子であるc-Fosの発現を指標として、CFSによる不安反応の際に活性化される脳内部位を検討してきた（Izumi et al., 2006）。不安反応の際には、皮質および皮質下の広汎な部位でc-Fos発現の増加が認められ、従来の報告（Beck & Fibiger: *J. Neurosci.* 15(1): 709-720, 1995 など）と一致した。しかし従来の研究では、最初に負荷した電撃ストレスの持ち越し効果や、shock箱に入れる操作自体の効果などの非特異的効果が、不安そのものによる変化から十分に分離して評価されていなかった。筆者は各種のコントロール群を設定することにより、非特異的効果から分離して不安反応による脳内変化を評価する

ことに成功し、その結果の一部を発表した（第36回日本神経精神薬理学会、2006.9.14-16, 名古屋）。文脈性CFSによる不安反応の際には、扁桃体基底核が特異的に活性化されており、LeDouxらの破壊実験と矛盾しない結果であった。

ヒトの不安障害の治療には、これまでベンゾジアゼピン系抗不安薬が広く用いられてきたが、依存や認知機能低下などの副作用のため、世界的趨勢として選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）が第一選択薬となつつある。筆者はCFSによる基底核の活性化がSSRIによって抑制されることを確認し、扁桃体基底核がSSRIの抗不安作用の作用脳部位であることを示した（Izumi et al., 2006）。

## 2. 研究の目的

筆者はCFSを不安の動物モデルとして用い、不安に関する脳内神経回路、特に扁桃体の役割についてさらに研究を進めたいと考えている。また、扁桃体の機能を調節しているとされる、内側前頭前野の機能についても、5-HT神経系との関連で検討することとした。5-HT神経系に作用するSSRIが不安障害に広く用いられているが、SSRIが内側前頭前野を介して扁桃体に作用するのか、それとも直接扁桃体に作用するのかは、十分明らかにされていないからである。

動物モデルを用いた情動研究の役割を、抗うつ薬、抗不安薬などの薬効検出に限定する立場も存在するが、筆者は不安に関連した脳内神経回路を、ひとつひとつ実験的に証明してゆく作業が重要であると考えている。当然のことながら、PTSDをはじめヒトの不安障害の症状は社会・心理的要因によって規定される部分が多いが、その基盤となる脳内メカニズムについて神経科学の立場から回答を与えることが不可能であるとは思えない。不安の研究は、人間性の解明に対する神経科学の貢献のひとつになり得ると筆者は考えている。

### 3. 研究の方法

(1) 不安の動物モデルであるラットの恐怖条件付けストレスにおいて、ストレスを負荷した際にどの脳部位で、細胞活性化の指標であるCREBのリン酸化および転写因子c-Fosの発現が変化するかを、免疫組織化学的方法によって検討する。さらにc-Fos発現増加が認められた細胞について、c-Fosと神経細胞特異的マーカーとの二重染色により、ニューロンであるかグリアであるか、グルタミン酸ニューロンであるかGABAニューロンであるかを同定する。

(2) 嗅周囲皮質刺激による扁桃体基底核誘発電位に対し、SSRIであるfluvoxamineと、ベンゾジアゼピン系抗不安薬であるdiazepamの投与を試み、抗不安薬に対する扁桃体の電気生理学的反応を調べる。

(3) 内側前頭前野に投射している5-HT神経終末を、5-HT神経毒である5,7-DHTの局所投与により破壊し、恐怖条件付けストレスの発現および消去に対する影響を検討する。破壊の効果は、HPLCによる組織内5-HT含量測定により確認する。

### 4. 研究成果

(1) 不安の動物モデルであるラットの恐怖条件付けストレスにおいて、ストレス時に扁桃体基底核で、細胞活性化の指標であるCREBのリン酸化亢進および転写因子c-Fosの発現増加が認められた。神経細胞特異的マーカーとの二重染色によって、リン酸CREB陽性細胞は約8割がグルタミン酸ニューロンであり、残りはGABAニューロンであることが確認された。それに対し、c-Fos陽性細胞はその大部分がグルタミン酸ニューロンであった。細胞内情報伝達系において、CREBはc-Fosよりも上流に存在するため、不安によって活性化される扁桃体基底核GABAニューロンでは、CREBの下流に存在するc-Fos以外の転写因子の発現増加が起きていることが示唆された。

(2) 嗅周囲皮質刺激による扁桃体基底核誘発電位に対し、SSRIであるfluvoxamineと、ベ

ンゾジアゼピン系抗不安薬であるdiazepamの投与を試みた。fluvoxamine投与によって扁桃体基底核誘発電位は有意に増強したが、diazepamの投与では不変であった。扁桃体基底核での5-HT神経伝達増強によって、同部位のシナプス伝達効率が増加し、不安を抑制する何らかの神経機構が働いていることが示唆された。

(3) 内側前頭前野に投射している5-HT神経終末を、5-HT神経毒である5,7-DHTの局所投与により破壊し、恐怖条件付けストレスの発現および消去に対する影響を検討した。破壊の効果はHPLCによる組織内5-HT含量測定により確認した。内側前頭前野背側部で十分な5-HT神経終末破壊を確認したが、恐怖条件付けの発現および消去に対する影響は認められなかった。これより、内側前頭前野背側部の5-HT神経は、恐怖条件付けの発現および消去に関与していないことが示唆された。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

- ① Machiko Matsumoto, Early postnatal stress alters the extinction of context-dependent conditioned fear in adult rats., *Pharmacology Biochemistry Behavior*, 89 巻, 2008 年, 247-252, 査読有
- ② Takeshi Izumi, Changes in amygdalaneural activity that occur with the extinction of context-dependent conditioned fear stress., *Pharmacology Biochemistry Behavior*, 90 巻, 2008 年, 297-304, 査読有
- ③ Riki Hirata, Characterization of stress-induced suppression of long-term potentiation in the hippocampal CA1 field of freely moving rats.,

Brain Research, 1226巻, 2008年, 27-32,  
査読有

- ④ Hiroyuki Nishikawa, Pharmacokinetic interaction between tandospirone and fluvoxamine in therat contextual conditioned fear stressmodel and its functional consequence: Involvement of cytochrome P450 3A4., Psychiatry and Clinical Neuroscience, 62巻, 2008年, 591- 596, 査読有
- ⑤ Ihoko Muraki, Effect of different challenge doses after repeated citalopram treatment on extracellular serotonin level in the medial prefrontal cortex: In vivo microdialysis study., Psychiatry and Clinical Neuroscience, 62巻, 2008年, 568-574, 査読有

[学会発表] (計3件)

- ① 泉 剛, Characterization and functional meaning of the conditioned fear-related neural cells in the basolateral amygdala., 第82回日本薬理学会年会, 2009年3月16日, パシフィコ横浜
- ② 泉 剛, Effect of fluvoxamine on the evoked field potentials in the basal amygdala induced by perirhinal cortex stimulation in vivo, 第81回日本薬理学会, 2008年3月17日, パシフィコ横浜
- ③ 泉 剛, Evoked field potentials of the basal amygdala induced by perirhinal cortex stimulation, 第37回 日本神経精神薬理学会, 2007年7月13日, 札幌コンベンションセンター

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

泉 剛 (IZUMI TAKESHI)  
北海道大学・大学院医学研究科・助教  
研究者番号：60312360

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

山口 拓 (YAMAGUCHI TAKU)  
北海道大学・大学院医学研究科・助教  
研究者番号：80325563  
吉岡 充弘 (YOSHIOKA MITSUHIRO)  
北海道大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：40182729  
松本 真知子 (MATSUMOTO MACHIKO)  
北海道医療大学・大学院薬学研究科・准教授  
研究者番号：70229574